

REC'D 02 AUG 2004

WIPO PCT

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원 번호 :
Application Number

10-2004-0053031

출원 년 월 일 :
Date of Application

2004년 07월 08일
JUL 08, 2004

출원 인 :
Applicant(s)

주식회사 디지털바이오테크놀로지
Digital Bio Technology Co., Ltd.

**PRIORITY
DOCUMENT**

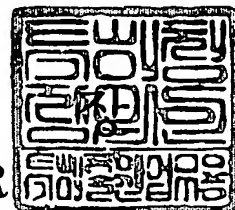
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



2004 년 07 월 13 일

특 허 청

COMMISSIONER



NOT FOR PUBLICATION

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2004.07.08
【발명의 명칭】	미세입자 계수 장치
【발명의 영문명칭】	Device for counting micro particles
【출원인】	
【명칭】	주식회사 디지털바이오테크놀러지
【출원인코드】	1-2000-049798-4
【대리인】	
【성명】	김영철
【대리인코드】	9-1998-000040-3
【포괄위임등록번호】	2003-030658-4
【대리인】	
【성명】	김순영
【대리인코드】	9-1998-000131-1
【포괄위임등록번호】	2003-030659-1
【발명자】	
【성명의 국문표기】	장준근
【성명의 영문표기】	CHANG, Jun Keun
【주민등록번호】	670916-1047621
【우편번호】	137-064
【주소】	서울특별시 서초구 방배4동 그랑시엘 빌라 501호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정찬일
【성명의 영문표기】	CHUNG, Chanil
【주민등록번호】	691224-1066914
【우편번호】	437-080
【주소】	경기도 의왕시 내손동 삼성래미안 106동 2201호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

허대성

【성명의 영문표기】

HUR,Dae Sung

【주민등록번호】

701016-1789925

【우편번호】

712-905

【주소】

경상북도 경산시 하양읍 금락4리 116-188호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

단 친유 알렉세이

【성명의 영문표기】

DAN CHIN-YU,Alexey

【주소】

서울시 관악구 봉천동 1681-15, 203호

【국적】

RU

【발명자】

【성명의 국문표기】

정석

【성명의 영문표기】

CHUNG,Seok

【주민등록번호】

740215-1047743

【우편번호】

121-240

【주소】

서울특별시 마포구 연남동 229-5 201호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

황정구

【성명의 영문표기】

HWANG,Jeong Ku

【주민등록번호】

740526-1348010

【우편번호】

210-140

【주소】

강원도 강릉시 송정동 대림맨션 1207호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

전승화

【성명의 영문표기】

JEON,Seung Hwa

【주민등록번호】

800208-2348013

【우편번호】

210-101

【주소】

강원도 강릉시 교1동 교2주공아파트 205동 1302호

【국적】

KR

【우선권주장】

【출원국명】

KR

【출원종류】

특허

【출원번호】

10-2003-0049524

【출원일자】

2003.07.19

【증명서류】

미첨부

【심사청구】

청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인

김영철 (인) 대리인

김순영 (인)

【수수료】

【기본출원료】

29 면 38,000 원

【가산출원료】

30 면 0 원

【우선권주장료】

1 건 20,000 원

【심사청구료】

16 항 621,000 원

【합계】

679,000 원

【감면사유】

소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】

217,700 원

【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 세포와 같은 미세입자의 개체수를 계수하기 위한 장치에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 상기 미세입자를 포함하는 시료가 안치되어 있는 시료 칩 상의 소정 영역으로 빛을 조사하는 광원; 상기 소정영역에 형성된 시료의 상을 확대하기 위한 대물렌즈; 상기 시료의 상을 촬영하는 영상촬영수단; 촬영된 영상으로부터 상기 소정영역의 미세입자를 계수하는 미세입자 계수부; 및 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 미세입자 개체수 계수 장치에 관한 것이다.

본 발명에 따른 미세입자 계수 장치를 사용함으로써, 시료 내의 효모, 유산균, 동물세포, 적혈구 또는 백혈구 등과 같은 미세입자의 개수를 자동으로 계수할 수 있다. 특히, 상기 칩 이동부는 영상촬영수단에 의하여 촬영된 영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록, 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시킨다. 따라서, 상기 시료 칩 상에서 임의로 분할된 각각의 영역이 순차적으로 촬영된다. 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영된 각 영역의 미세입자를 계수한 후, 이를 합산하여 상기 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수한다. 따라서, 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치는 미세입자의 개체수를 신속하고 정확하게 계수할 수 있다. 또한, 그 구조가 간단하고, 사용 방법이 간단하다.

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

미세입자 계수 장치 {Device for counting micro particles}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치의 구성도.

도 2a는 시료를 안치하는 시료 칩의 평면도.

도 2b는 상기 시료 칩의 단면도.

도 3은 상기 미세입자 계수 장치가 상기 시료 칩을 소정영역 별로 촬영하고, 계수할 수 있도록, 상기 시료 칩을 각각의 소정영역으로 구획한 예.

도 4는 본 발명의 제1실시예에 따라, 발광 다이오드를 광원으로 갖는 장치의 구성도.

도 5는 본 발명의 제2실시예에 따라, 레이저를 광원으로 갖는 장치의 구성도.

도 6a 및 도 6b는 본 발명의 제2실시예에 따라 세포를 계수한 결과 및 그래프.

<도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명>

10 : 광원 11a : 발광 다이오드(LED)

11b : 레이저 광원 12a, 12b : 입사광조절렌즈

13a : 입사광여파기 14, 51 : 반사경

20 : 시료 칩 21 : 시료 투입구

22 : 시료 배출구 23 : 판독부

24 : 시료 칩 상부기판 25 : 시료 칩 하부기판

27 : 시료 칩 이동부 30 : 대물렌즈

40 : 광여과기 50 : CCD 카메라

60 : 미세입자 계수부

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<18> 본 발명은 세포와 같은 미세입자의 개체수를 계수하기 위한 장치에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 상기 미세입자를 포함하는 시료를 소정 부피의 판독부에 안치하는 시료 칩; 상기 시료 칩 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 광원; 상기 소정영역에 형성된 시료의 상을 확대하기 위한 대물렌즈; 상기 시료의 상을 촬영하는 영상촬영수단; 촬영된 영상으로부터 상기 소정영역의 미세입자를 계수하는 미세입자 계수부; 및 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 미세입자 개체수 계수 장치에 관한 것이다.

<19> AIDS, 백혈병 또는 빈혈 등의 질병을 가진 환자들에 대하여, 이러한 질병을 진단하고, 질병의 진행 경과를 모니터링하며, 치료 효과를 파악하기 위해서는, 이들 환자들의 혈액 중에서 상기 질병들과 관련된 백혈구 또는 적혈구의 개체수를 계수하고, 그 분포를 파악할 필요가 있다.

<20> 특히, 상기 질병들을 진단하기 위한 혈액 검사 뿐만 아니라, 상기 질병을 보유하고 있는 것으로 판명된 환자들에 대하여 모니터링하기 위한 혈액 검사가 더욱 많이 이루어지고 있다.

- <21> 이러한 혈액 분석을 위하여 개발된 분석기기, 예를 들어, 덴마크의 케모메텍 (Chemometec)사의 뉴클레오카운터(NucleoCounter)TM는 그 가격이 매우 고가이고, 그 작동 방법이 매우 어렵기 때문에 일반인뿐만 아니라, 진단 전문가들조차 사용에 곤란을 느끼고 있다. 또한, 상기 기기에 사용되는 시료 칩도 별도로 제작되는 것으로서 매우 고가이기 때문에, 상기 기기의 사용에 부담이 된다.
- <22> 이러한 실정으로 인하여, 현재 대부분의 병원에서는 임상병리사들이 직접 수작업으로 혈액 중의 백혈구 또는 적혈구 세포를 계수하고 있다. 임상병리사들이 직접 수작업으로 계수하기 때문에, 검사 결과에서 오차가 많이 발생하고, 검사하는데 시간이 많이 소요된다.
- <23> 따라서, 혈액 중의 백혈구 또는 적혈구를 신속하고 정확하게 계수하고, 비용이 저렴하면서도 편리하게 사용할 수 있는 계수 장치에 대한 필요성이 매우 높다.
- <24> 특히, 환자의 소변, 뇌척수액, 위액 또는 복수 등을 시료로서 채취하여 검사하는 경우에는, 상기 시료의 특성상 1시간 이내에 검사가 완료되어야 한다. 따라서, 상기 시료 중의 특정 세포를 신속하게 계수할 수 있는 장치가 필요하다.
- <25> 또한, 종래 개발된 장치를 이용하거나, 수작업으로 계수하는 경우, 실험자가 인체에 유해한 염색 시약에 노출되는 빈도가 매우 높다는 문제가 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <26> 본 발명은 상기 문제점들을 해결하기 위하여 제안된 것으로서, 본 발명에 따른 미세입자 개체수 계수 장치는, 시료칩; 광원; 대물렌즈; 영상촬영수단; 미세입자 계수부; 및 칩 이동부를 포함한다.

- <27> 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치를 사용함으로써, 시료 내의 효모, 유산균, 동물세포, 적혈구 또는 백혈구 등과 같은 미세입자의 개수를 자동으로 계수할 수 있다.
- <28> 특히, 상기 칩 이동부는 상기 영상촬영수단, 예를 들어, CCD 카메라에 의하여 촬영된 영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록, 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시킨다. 따라서, 상기 시료 칩 상에서 임의로 분할된 각각의 영역이 순차적으로 촬영된다. 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영된 각 영역의 미세입자를 계수한 후, 이를 합산하여 상기 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수한다. 따라서, 시료 내의 미세입자를 정확하고, 신속하게 계수할 수 있다. 또한, 그 구조가 간단하고, 사용 방법이 간단하며, 가격이 저렴하다.
- <29> 따라서, 본 발명의 목적은 미세입자의 개체수를 계수하기 위한 장치를 제공하기 위한 것이다.

【발명의 구성】

- <30> 본 발명은 미세입자의 개체수를 계수하기 위한 장치에 관한 것이다.
- <31> 더욱 구체적으로, 본 발명은
- <32> 상기 미세입자를 포함하는 시료를 소정 부피의 판독부에 안치하는 시료 칩;
- <33> 상기 시료 칩 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 광원;
- <34> 상기 광원에서 조사한 빛에 의하여 형성된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩과 접해있는 대물렌즈;
- <35> 상기 대물렌즈를 통하여 확대된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 촬영하는 영상촬영수단(예를 들어, CCD 카메라);

- <36> 상기 영상촬영수단에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 시료 칩 상의 소정영역의 미세입자를 계수하는 미세입자 계수부; 및
- <37> 상기 영상촬영수단에 의하여 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 장치에 관한 것이다.
- <38> 본 발명에 따른 장치에서, 상기 칩 이동부는 소정 시간마다 시료 칩을 소정 거리 이동시킨다. 예를 들어, 시료 칩 중에서 빛이 입사되는 소정영역이 CCD 카메라에 의하여 촬영될 때마다, 후속 동작을 위하여 이미 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시킨다. 이와 같이, 시료 칩이 소정 시간마다 소정 거리 이동함에 따라, CCD 카메라에 의하여 촬영된 소정영역의 이웃한 영역을 계속하여 촬영할 수 있다. 따라서, 상기 시료 칩의 전 영역을 순차적으로 모두 촬영할 수 있다. 상기 시료 칩은 칩 이동부, 예를 들어, 랙/피니언 방식이나 볼 스크류 방식의 X-Y 스테이지에 의하여 그의 위치를 고속으로 정밀하게 제어할 수 있다.
- <39> 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영되는 시료 칩 상의 각 소정영역의 미세입자를 계수한 후, 각 소정영역의 미세입자 개체수를 합산함으로써, 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수할 수 있다. 특히, 상기 시료 칩에서 상기 시료가 충전되어 있는 판독부의 높이 및 영상촬영수단에 의하여 촬영되는 영역의 면적을 알고 있는 경우에는 상기 판독부의 부피를 알 수 있다. 따라서, 미세입자를 계수한 전체 영역(판독부)의 부피를 알 수 있으므로, 미세입자가 계수된 시료의 부피를 계산할 수 있다. 따라서, 상기 시료의 전체 부피 및 미세입자의 전체 개체수로부터, 상기 미세입자의 평균 농도(즉, 단위 부피당 미세입자의 개수)를 계산할 수 있다.

- <40> 이와 같이, 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치는 시료 칩을 소정영역 별로 촬영하고, 계수하기 때문에 계수의 정밀도를 높일 수 있다. 또한, 미세입자가 시료칩 내에 편재되어 분산되더라도, 시료의 전영역에 대하여 계수하기 때문에 오차가 발생하지 않는다.
- <41> 본 발명에 따른 장치에 있어서, 상기 광원으로는 계수하려는 입자의 특성에 따라 할로겐 램프, 제논 램프, 머큐리 램프, 발광 다이오드 또는 레이저를 선택하여 사용한다. 예를 들어, 적혈구를 계수하는 경우에는 자외선-가시광선을 발하는 램프 또는 발광 다이오드를 광원으로서 사용하는 것이 바람직하다. 또한, 세포핵이 포함되어 있는 백혈구 또는 체세포를 계수하려는 경우에는 레이저를 광원으로서 사용하는 것이 바람직하다.
- <42> 본 발명에 따른 장치는 광원으로부터 발한 빛의 양과 초점거리를 조절하여 시료 칩 상으로 조사시키는 입사광조절렌즈를 상기 광원의 전면면에 더 포함할 수 있다.
- <43> 또한, 본 발명에 따른 장치는, 대물렌즈를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여과기를 상기 대물렌즈와 영상촬영수단 사이에 더 포함할 수 있다. 따라서, 상기 시료의 입자 중, 특정 입자에서 발하는 특정 파장대의 빛만을 선택적으로 통과시켜 상기 영상촬영수단으로 촬영함으로써 상기 입자의 개수를 계수할 수 있다.
- <44> 상기 장치는, 복수개의 레이저를 구비할 수 있으며, 각 레이저의 파장대에 따른 광여과기를 복수개 구비하고 있는 광여과기 교환부를 더 포함할 수 있다. 상기 광여과기의 복수의 광여과기 중 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 특정의 광여과기를 선택하여 사용할 수 있기 때문에, 목적하는 입자를 용이하게 계수할 수 있다.
- <45> 대물렌즈로는 임의의 배율의 렌즈를 필요에 따라 선택하여 사용할 수 있다. 상기 시료 칩 상의 관독부 상에서 입자의 분포를 전체적으로 파악하기 위해서는 저배율로 관찰하는 것이

바람직하다. 그러나, 상기 시료 칩 상의 판독부 상에서 임의로 구획된 소정영역 각각에 대하여 빛을 조사하고 영상촬영수단으로 관찰하여 계수하는 경우에는, 정확한 계수를 위하여 고배율의 대물렌즈를 사용하는 것이 바람직하다.

<46> 상기 영상촬영수단 예를 들어, CCD 카메라에서 촬영한 영상은 컴퓨터로 전송된 후, 상기 컴퓨터에 구비되어 있는 미세입자 계수부에서 이미지 검출 관련 프로그램을 구동함으로써 특정 입자의 개체수를 계수할 수 있다. 전술한 바와 같이, 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영되는 시료 칩 상의 각 소정영역의 미세입자를 계수한 후, 각 소정영역의 미세입자 개체수를 합산함으로써, 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수할 수 있다. 또한, 상기 미세입자의 전체 개체수 및 상기 시료칩의 판독부의 부피로부터 상기 미세입자의 농도를 계산할 수 있다.

<47> 자외선-가시광선 광원을 사용하여 적혈구를 촬영하는 경우, 상기 적혈구는 검은색으로 나타나기 때문에, 이러한 검은색 입자를 계수함으로써 적혈구를 계수할 수 있다. 또한, 레이저를 광원으로 사용하고, 형광염료가 도포되어 있는 시료 칩 상에 혈액을 떨어뜨려 검사하는 경우, 백혈구는 형광염료에 염색되어 있어 특정 파장의 빛만을 발하게 되므로, 상기 대물렌즈를 통과한 빛 중에서 광여파기를 통과한 특정 영역의 파장대의 빛만을 촬영함으로써, 상기 백혈구를 계수할 수 있다.

<48> 상기한 바와 같은 장치를 사용함으로써, 혈액 내의 적혈구 또는 백혈구 등과 같은 각종 구성성분 뿐만 아니라, 체액 중의 체세포 및 기타 일반적인 미세입자를 즉시 계수할 수 있다. 또한, 전체 백혈구 개수 중 특정 백혈구 개수의 비를 즉시 계산함으로써, 신속하게 질병 경과

등을 보고할 수 있다. 또한, 세포의 활성(cell viability) 및 유전자 발현된 세포의 계수 등의 검사에도 이용할 수 있다.

<49> 특히 사용이 편리하여, 시료 칩 내에 시료를 떨어뜨린 후, 상기 시료 칩을 본 발명에 따른 장치에 장착하면, 자동적으로 미세입자의 수가 계수된다. 따라서, 전문가 뿐만 아니라 일반인들도 용이하게 사용할 수 있다.

<50> 이하에서는, 도면을 참조하여 본 발명에 따른 미세입자 개체수 계수 장치의 실시예를 구체적으로 설명한다. 그러나, 본 발명이 하기 실시예에 의하여 제한되는 것은 아니다.

<51> 도 1은 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치의 구성도이다.

<52> 상기 장치는 미세입자를 포함하는 시료가 소정 부피의 판독부에 안치되어 있는 시료 칩(20); 상기 시료 칩(20) 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 광원(10); 상기 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩(20)과 접해있는 대물렌즈(30); 상기 대물렌즈(30)를 통하여 확대된 상기 시료의 상을 촬영하는 CCD 카메라(50); 및 상기 CCD 카메라(50)에 의하여 촬영된 영상으로부터 미세입자를 계수하는 미세입자 계수부를 포함한다. 상기 시료 칩(20)은 시료 칩 중의 소정영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 이동시킬 수 있는 칩 이동부(27)에 안치된다. 따라서, 상기 CCD 카메라(50)에 의하여 이미 촬영된 영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩(20)의 위치를 제어할 수 있다.

<53> 상기 미세입자 계수 장치는, 상기 대물렌즈(30)를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여과기(미도시)를 더 포함할 수 있다.

- <54> 이하에서는, 도 1 내지 도 3을 참조하여 본 발명에 따른 장치의 동작에 대하여 설명한다.
- <55> 상기 광원(10)에서 발한 빛은 시료 칩(20) 상의 소정영역으로 조사된다. 이때, 상기 광원(10)에서 나온 빛의 양과 초점 거리를 조절하기 위하여 입사광조절렌즈(미도시)를 추가로 구비할 수 있다. 또한, 상기 렌즈를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시켜 상기 시료 칩(20) 상으로 조사시키는 입사광여파기(미도시)를 추가로 구비할 수 있다.
- <56> 시료를 안치하기 위한 상기 시료 칩의 일예를 도 2a 및 도 2b에 도시하였다. 도 2a는 상기 시료 칩의 평면도이고, 도 2b는 상기 시료칩의 단면도이다.
- <57> 상기 시료 칩(20)은 상부기관(24) 및 하부기관(25)으로 구성되며, 상기 상부기관(24)과 하부기관(25) 사이에는 상기 시료를 충전하기 위한 공간을 형성하는 판독부(23)가 구비되어 있다. 상기 판독부(23)는 소정 높이 및 소정 넓이로 형성시킴으로써, 시료의 부피를 정확하게 알 수 있다. 상기 판독부의 높이는 바람직하게는 10 내지 100 μ m로 형성시켜, 검사 대상 미세 입자들이 부유하지 않고, 고정되도록 한다.
- <58> 또한, 상기 시료 칩(20)은 상기 판독부(23)와 연결되어 시료를 투입할 수 있는 시료 투입구(21) 및 상기 시료 투입시 상기 판독부(23) 내에 있던 공기와 과량의 시료를 배출하기 위한 시료 배출구(22)를 구비한다.
- <59> 상기 시료 칩(20)은 플라스틱 재질로 제조하며, 1회용으로 간편하게 사용할 수 있다.
- <60> 상기 시료 칩(20)의 판독부(23) 내부에 상기 시료를 염색하기 위한 염색시약을 미리 코팅시켜 놓는다면, 사용자가 상기 염색시약과 같은 유해물질을 다루지 않아도 된다.

- <61> 상기한 바와 같은 시료 칩(20)상에 미세입자를 포함하는 시료를 상기 시료 투입구(21)에 떨어뜨려 상기 판독부(23) 내에 상기 시료를 충전시킨 후, 상기 시료 칩(20)을 칩 이동부(27) 상에 안치시킨다. 이후, 상기 칩 이동부(27)에 의하여 상기 시료 칩(20)을 상기 광원(10)의 입사 위치로 이동시킨다.
- <62> 상기 광원(10)의 빛이 상기 시료 칩(20) 상의 소정영역으로 조사되면, 상기 시료의 상은 상기 시료 칩(20)과 접해있는 대물렌즈(30)에 의하여 확대되고, 상기 대물렌즈(30)를 통하여 확대된 상기 시료의 상을 CCD 카메라(50)가 촬영한다.
- <63> 이때, 상기 상기 대물렌즈(30)를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여파기(미도시)를 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 상기 광여파기를 통하여, 상기 시료의 입자 중 특정 입자에서 발하는 특정 파장대의 빛만을 선택적으로 통과시킴으로써, 상기 CCD 카메라(50)가 상기 특정 입자만을 촬영하게 할 수 있다.
- <64> 상기 CCD 카메라(50)에서 촬영된 영상이 미세입자 계수부(60)로 전송된 후, 상기 미세입자 계수부(60)의 이미지 검출 관련 프로그램의 구동에 의하여, 시료 칩 중 상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 소정영역 내의 미세입자 개체수를 계수할 수 있다.
- <65> 이후, 이미 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역을 촬영하여 상기 인접한 영역 내의 미세입자를 계수할 수 있도록, 상기 칩 이동부(27)는 상기 시료 칩(20)을 소정 거리 이동시키며, 이에 따라 촬영 및 계수하고자 하는 상기 인접한 영역이 광원의 입사 위치에 오게 된다.
- <66> 도 3은 상기 미세입자 계수 장치가 상기 시료 칩을 소정영역 별로 촬영하고, 계수할 수 있도록, 상기 시료 칩의 판독부를 각각의 소정영역으로 구획한 예이다. 상기 판독부 상의 각각의 영역 (1) 내지 (120)은 상기 CCD 카메라에 의하여 개별적으로 촬영되는 각각의 영역을 의

미한다. 따라서, 상기 판독부 상의 구획선은 설명의 편의를 위한 가상의 선이며, 상기 판독부 상에 실재하는 것은 아니다. 또한, 상기 분할되는 영역의 면적 및 영역의 개수는 미세입자 계수의 정확성 및 계수 연산 속도를 감안하여, 적절하게 조정될 수 있다.

<67> 시료 칩이 상기 도 3에 도시되어 있는 바와 같이 소정영역으로 분할되어 있는 경우, 먼저 영역(1)을 촬영하고, 상기 촬영된 영역(1)의 인접한 영역인 영역(2)가 광원의 입사 위치에 오도록 소정 거리 이동시켜, 상기 영역(2)를 촬영하게 된다. 이러한 과정을 반복함으로써, 영역 (1) 내지 (120)의 전 영역을 모두 촬영한다.

<68> 미세입자 계수부(60)는 영역(1) 내지 (120)의 미세입자를 각각 계수한 후, 각 영역(1) 내지 (120)의 미세입자 개체수를 합산함으로써, 전체 개체수를 계수할 수 있다. 또한, 상기 시료 칩에서 상기 시료가 충전되어 있는 판독부의 높이, 및 상기 영역 (1) 내지 (120)의 면적을 미리 알고 있는 경우 상기 판독부의 부피를 알 수 있기 때문에, 관찰된 영역의 시료의 부피를 계산할 수 있다. 따라서, 상기 관찰된 시료의 전체 부피 및 미세입자의 전체 개체수로부터, 상기 미세입자의 평균 농도(즉, 단위 부피당 미세입자의 개수)를 계산할 수 있다.

<69> 도 4는 본 발명의 제1실시예로서, 발광 다이오드를 광원으로 갖는 장치의 구성도이다.

상기 도 4에 도시되어 있는 장치는 적혈구를 계수하기 위한 것으로서, 상기 장치는,

<70> 상기 적혈구를 포함하는 시료가 소정 부피의 판독부에 안치되어 있는 시료 칩(20); 상기 시료 칩(20) 상의 소정영역으로 자외선 또는 가시광선을 조사하는 발광 다이오드(11a); 상기 발광 다이오드(11a)에서 나온 빛의 양과 초점 거리를 조절하기 위한 입사광조절렌즈(12a); 상기 입사광조절렌즈(12a)를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시켜 상기 시료 칩(20) 상으로 조사하는 입사광여과기(13a); 상기 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩과 접

해있는 대물렌즈(30); 상기 대물렌즈(30)를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여파기(40); 상기 광여파기(40)를 통과한 시료의 상을 촬영하는 CCD 카메라(50); 상기 CCD 카메라(50)에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 시료 칩 상의 소정영역 내의 적혈구의 개체수를 계수하는 미세입자 계수부(60); 및 상기 시료 칩(20)을 소정거리 이동시키는 칩 이동부(27)를 포함한다.

<71> 상기 장치는 상기 광여파기(40)를 통과한 빛이 상기 CCD 카메라(50)로 입사되도록 빛의 경로를 변경하는 반사경(51)을 추가로 포함한다.

<72> 도 5는 본 발명의 제2실시예로서, 레이저(11b)를 광원으로 갖는 장치의 구성도이다. 상기 도 5에 도시되어 있는 장치는 백혈구 또는 체세포 등과 같이 세포핵이 포함되어 있는 세포를 계수하기 위한 것으로서, 상기 장치는,

<73> 형광염료 및 세포를 포함하는 시료가 소정 부피의 판독부에 안치되어 있는 시료 칩(20); 상기 시료 칩(20) 상으로 빛을 조사하는 레이저 광원(11b); 상기 레이저 광원(11b)에서 나온 빛의 양과 초점 거리를 조절하여, 상기 시료칩(20) 상으로 빛을 조사하기 위한 입사광조절렌즈(12b); 상기 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩(20)과 접해있는 대물렌즈(30); 상기 대물렌즈(30)를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여파기(40); 상기 광여파기(40)를 통과한 상기 시료의 상을 촬영하는 CCD 카메라(50); 상기 CCD 카메라(50)에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 세포의 개체수를 계수하는 미세입자 계수부(60); 및 상기 시료 칩(20)을 소정거리 이동시키는 칩 이동부(27)를 포함한다.

<74> 상기 장치는 상기 입사광조절렌즈(12b)를 통과한 레이저가 상기 시료 칩(20)으로 조사되도록 빛의 경로를 변경하는 반사경(14), 및 상기 광여파기(40)를 통과한 빛이 상기 CCD 카메라(50)로 입사되도록 빛의 경로를 변경하는 반사경(51)을 추가로 포함한다.

- <75> 상기 시료 칩(20) 내에 미리 형광물질을 도포해 놓고, 상기 시료를 상기 시료 칩(20) 내에 충전시키는 경우에는, 상기 광여과기(40)에 의하여, 상기 대물렌즈(30)를 통과한 빛 중에서 상기 형광염료의 발광 파장에 해당하는 빛만을 통과시킴으로써, 상기 CCD 카메라(50)가 특정 입자만을 촬영할 수 있다.
- <76> 도 6a는 상기 도 4에 따른 미세입자 계수 장치를 사용하여 시료 칩 내에 충전시킨 시료 중의 동물세포의 개수를 계수한 실험 결과를 도시한 것이다.
- <77> 먼저 실험실에서 배양한 동물세포를 배양액에 준비하고, 준비된 시료 중 $20\mu\text{l}$ 를 형광 염료 PI(Propidium Iodide)가 포함된 시료 염색 용액과 동일한 부피로 혼합하여, 시료를 염색하였다. 염색된 시료 $20\mu\text{l}$ 를 시료 칩의 시료 투입구에 파이펫을 이용하여 주입하여, 상기 시료를 시료칩 내에 충전하였다.
- <78> 본 실험에서, 미세입자 계수 장치는 상기 시료 칩의 판독부를 총 120개(3×40)의 영역으로 구획하여 각 영역을 순차적으로 촬영하고 계수하였다. 분할된 각 영역의 크기는 가로 0.82mm 및 세로 0.61mm 이다. 상기 도 6a의 좌측 하단에 도시되어 있는 이미지는 상기 시료 칩의 각 영역 중 6번째 영역을 촬영한 사진이다. 상기 사진에서 흰 점들은 특정 파장의 형광을 발하는 동물세포를 나타낸다.
- <79> 120개 영역 전체에 대하여, 각각 촬영된 영상을 분석하여 각 영역에서의 미세입자를 계수하고, 이를 합산한 결과 총 1016개의 동물세포를 계수하였다. 한편, 상기 시료 칩의 판독부 중 촬영되는 영역의 넓이는 60mm^2 이고, 상기 판독부의 높이는 $100\mu\text{m}$ 이므로, 관찰된 시료의 부피는 $6\mu\text{l}$ 이다. 이로부터, 상기 시료에서의 동물세포의 평균 농도 $1.69 \times 10^5 \text{개}/\text{ml}$ 를 계산한다.

상기 시료는 동물세포를 포함하는 시료와 시료 염색 용액이 1:1로 혼합되어 희석된 것이므로, 실제 농도는 희석배수(dilution factor) 2를 곱한 3.38×10^5 개/ml이다.

- <80> 도 6b는 상기 120개 영역으로부터 얻은 120개 영상을 모두 분석하여 얻은 세포의 크기, 형광의 세기, 및 각 영상마다 존재하는 세포의 개수를 도시한 그래프이다.
- <81> 좌측의 그래프는 세포의 크기 분포를 도시한 것이다. x축은 영상에 나타난 세포의 크기이고, y축은 세포의 개수이다. 상기 세포의 크기 분포 그래프에서 피크 부분의 x축 값을 세포 크기의 최대값으로 설정하고, 상기 피크의 좌측 부분에서 최저점의 x축 값을 세포 크기의 최소값으로 설정하는 것이 바람직하다. 한편, 최소값을 $4\mu\text{m}$ 이하로 설정하는 경우에는 노이즈에 의한 픽셀을 세포로 계수할 가능성이 있으므로, 최소값은 $4\mu\text{m}$ 이상으로 설정하는 것이 바람직하다.
- <82> 중앙의 그래프는 세포가 발하는 형광의 세기를 도시한 것이다. x축은 0-255 범위의 그레이스케일로 표현되는 형광 세기이고, y축은 해당 형광 세기에 대한 픽셀 수를 나타낸다. 그레이스케일이 255인 픽셀은 형광을 발하는 세포가 도시되어 있는 부분의 픽셀이고, 그레이스케일이 0인 픽셀은 여백의 픽셀이다. 따라서, 대부분의 픽셀의 그레이스케일 값은 0 또는 255이다.
- <83> 우측의 그래프는 120개의 이미지 각각에 대하여 계수한 세포의 개수를 도시한 것이다. 각각의 이미지에 나타난 세포의 개수를 합산함으로써, 관찰된 영역에 존재하는 전체 세포의 개수를 구할 수 있다. 이미지마다 나타나 있는 세포의 개수에 대한 편차가 존재하지만, 전체 이미지의 세포 개수를 합산하기 때문에, 편차에 의한 오차는 발생되지 않는다.

<84> 전술한 본 발명에 따른 실시예는 상술한 것으로 한정되지 않고, 본 발명과 관련하여 통상의 지식을 가진자가 자명한 범위내에서 여러 가지 대안, 수정 및 변경하여 실시할 수 있다.

【발명의 효과】

<85> 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치를 사용함으로써, 시료 내의 효모, 유산균, 동물세포, 적혈구 또는 백혈구 등과 같은 미세입자의 개수를 자동으로 계수할 수 있다. 특히, 상기 칩 이동부는 상기 CCD 카메라와 같은 영상촬영수단에 의하여 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록, 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시킨다. 따라서, 상기 시료 칩 상에서 임의로 분할된 각각의 영역이 순차적으로 촬영된다. 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영된 각 영역의 미세입자를 계수한 후, 이를 합산하여 상기 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수한다. 또한, 상기 칩 이동부는 시료 칩의 위치를 고속 정밀 제어할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 미세입자 계수 장치는 미세입자의 개체수를 신속하고 정확하게 계수할 수 있다. 또한, 그 구조가 간단하고, 사용 방법이 간단하며, 가격이 저렴하다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

미세입자의 개체수를 계수하기 위한 장치로서,

상기 미세입자를 포함하는 시료를 소정 부피의 판독부에 안치하는 시료 칩;

상기 시료 칩 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 광원;

상기 광원에서 조사한 빛에 의하여 형성된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩과 접해있는 대물렌즈;

상기 대물렌즈를 통하여 확대된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 촬영하는 영상촬영수단;

상기 영상촬영수단에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 시료 칩 상의 소정영역의 미세입자를 계수하는 미세입자 계수부; 및

상기 영상촬영수단에 의하여 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서,

상기 칩 이동부는 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시키며,

상기 시료 칩이 소정 시간마다 소정 거리 이동함에 따라, 상기 영상촬영수단에 의하여 촬영된 소정영역의 인접한 영역이 순차적으로 촬영되는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 3】

제 2 항에 있어서, 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영되는 상기 시료 칩 상의 각 소정영역의 미세입자를 계수한 후, 각 소정영역의 미세입자 개체수를 합산하여 상기 시료 내의 미세입자의 전체 개체수를 계수하며; 상기 시료 칩의 판독부의 부피 및 상기 미세입자의 전체 개체수로부터 미세입자의 농도를 계산하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 4】

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대물렌즈를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여과기를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 5】

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 광원은 할로겐 램프, 제논 램프, 머큐리 램프, 발광 다이오드 및 레이저로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 6】

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 광원으로부터 발한 빛의 양과 초점 거리를 조절하여 상기 시료 칩 상으로 조사시키는 입사광조절렌즈를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 7】

적혈구의 개체수를 계수하기 위한 장치로서,

상기 적혈구를 포함하는 시료를 소정 부피의 판독부에 안치하는 시료 칩;

상기 시료 칩 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 램프 또는 발광 다이오드;

상기 램프 또는 발광 다이오드에서 조사한 빛에 의하여 형성된 상기 시료 칩 상의 소정 영역의 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩과 접해있는 대물렌즈;

상기 대물렌즈를 통하여 확대된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 촬영하는 CCD 카메라;

상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 시료 칩 상의 소정영역의 적혈구의 개체수를 계수하는 미세입자 계수부; 및

상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 8】

제 7 항에 있어서,

상기 칩 이동부는 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시키며,

상기 시료 칩이 소정 시간마다 소정 거리 이동함에 따라, 상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 소정영역의 인접한 영역이 순차적으로 촬영되는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 9】

제 8 항에 있어서, 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영되는 상기 시료 칩 상의 각 소정영역의 적혈구를 계수한 후, 각 소정영역의 적혈구 개체수를 합산하여 상기 시료 내의 적혈구의 전체 개체수를 계수하며; 상기 시료 칩의 판독부의 부피 및 상기 미세입자의 전체 개체수로부터 미세입자의 농도를 계산하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 10】

제 7 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대물렌즈를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여과기를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 11】

제 7 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 램프 또는 발광 다이오드로부터 발한 빛의 양과 초점거리를 조절하여 상기 시료 칩 상으로 조사시키는 입사광조절렌즈를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 12】

세포핵이 포함되어 있는 세포의 개체수를 계수하기 위한 장치로서,

형광염료 및 상기 세포를 포함하는 시료를 소정 부피의 판독부에 안치하는 시료 칩;

상기 시료 칩 상의 소정영역으로 빛을 조사하는 레이저 광원;

상기 레이저 광원에서 조사한 빛에 의하여 형성된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 확대하기 위하여 상기 칩과 접해있는 대물렌즈;

상기 대물렌즈를 통하여 확대된 상기 시료 칩 상의 소정영역의 시료의 상을 촬영하는 CCD 카메라;

상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 영상으로부터 상기 시료 칩 상의 소정영역의 세포의 개체수를 계수하는 미세입자 계수부; 및

상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 상기 소정영역의 인접한 영역이 상기 광원의 입사 위치에 오도록 상기 시료 칩을 이동시키는 칩 이동부를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 13】

제 12 항에 있어서,

상기 칩 이동부는 소정 시간마다 상기 시료 칩을 소정 거리 이동시키며,

상기 시료 칩이 소정 시간마다 소정 거리 이동함에 따라, 상기 CCD 카메라에 의하여 촬영된 소정영역의 인접한 영역이 순차적으로 촬영되는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 14】

제 13 항에 있어서, 상기 미세입자 계수부는 순차적으로 촬영되는 상기 시료 칩 상의 각 소정영역의 세포를 계수한 후, 각 소정영역의 세포 개체수를 합산하여 상기 시료 내의 세포의 전체 개체수를 계수하며; 상기 시료 칩의 판독부의 부피 및 상기 미세입자의 전체 개체수로부터 미세입자의 농도를 계산하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 15】

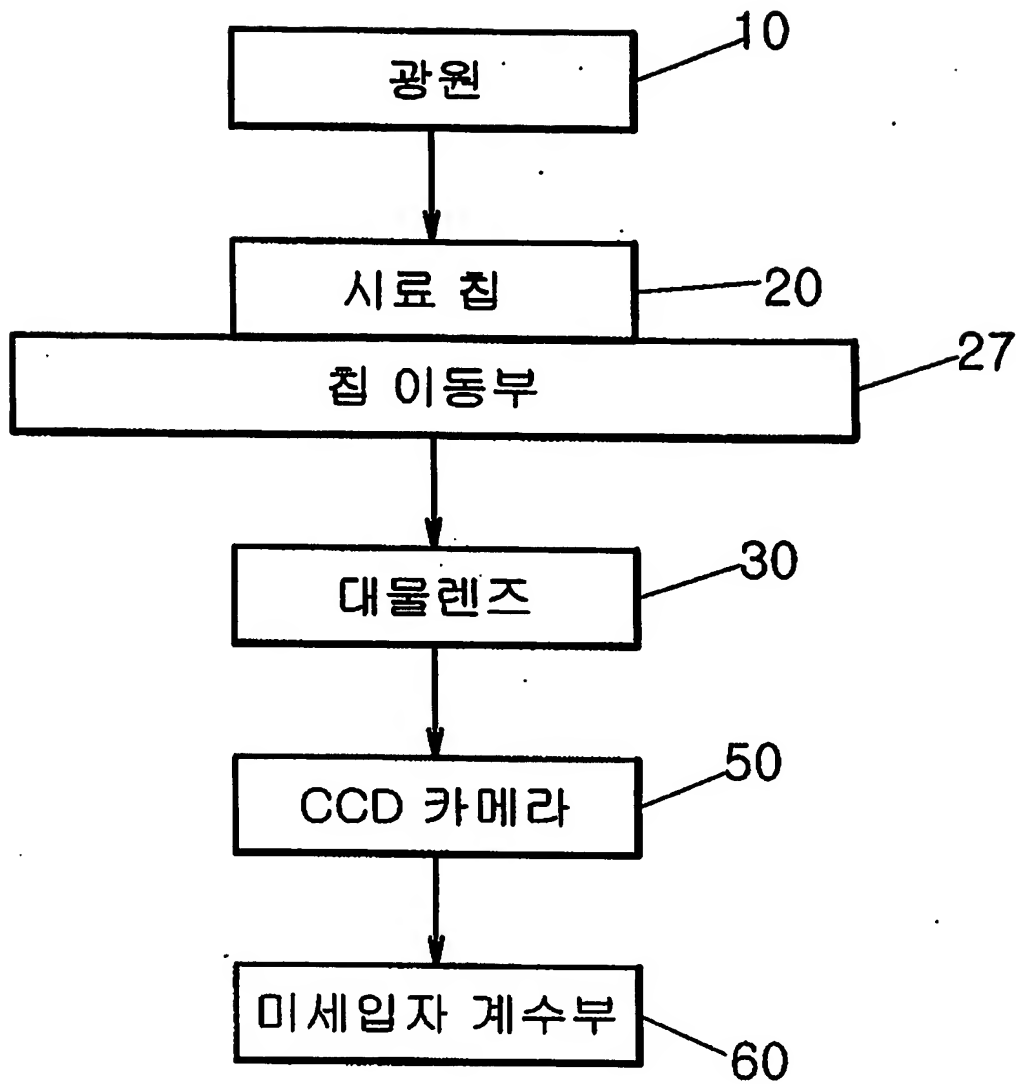
제 12 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대물렌즈를 통과한 빛 중에서 특정 영역의 파장대의 빛만을 통과시키는 광여과기를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【청구항 16】

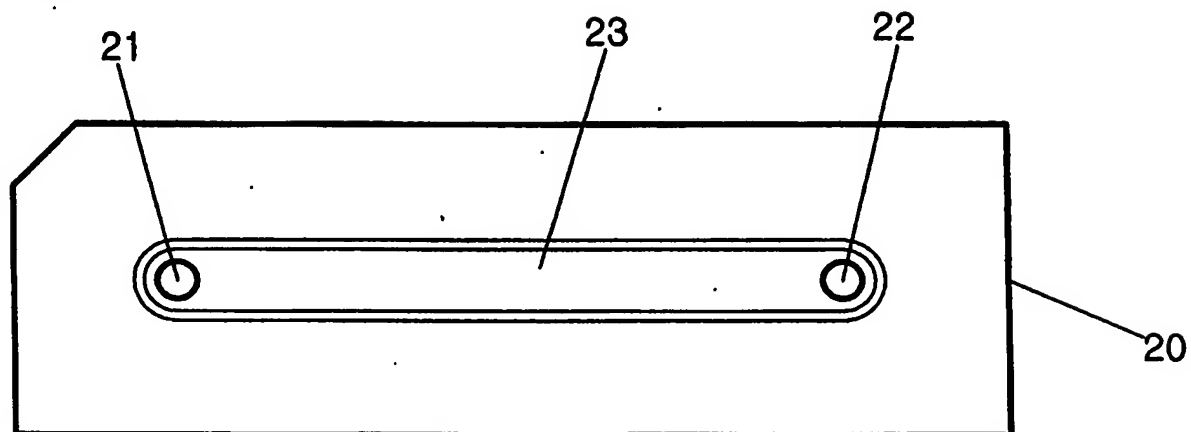
제 12 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 레이저 광원으로부터 발한 빛의 양과 초점거리를 조절하여 상기 시료 칩 상으로 조사시키는 입사광조절렌즈를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

【도면】

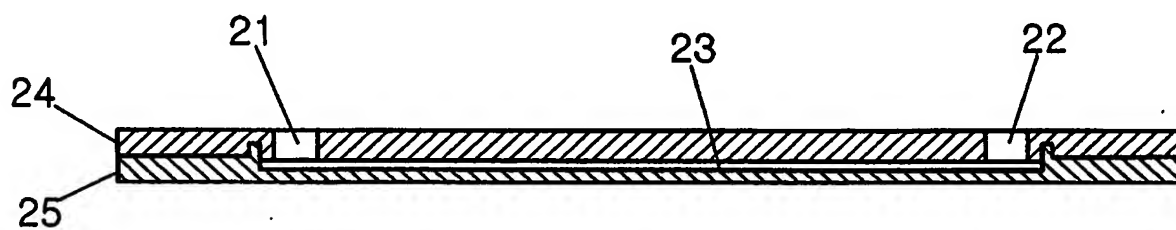
【도 1】



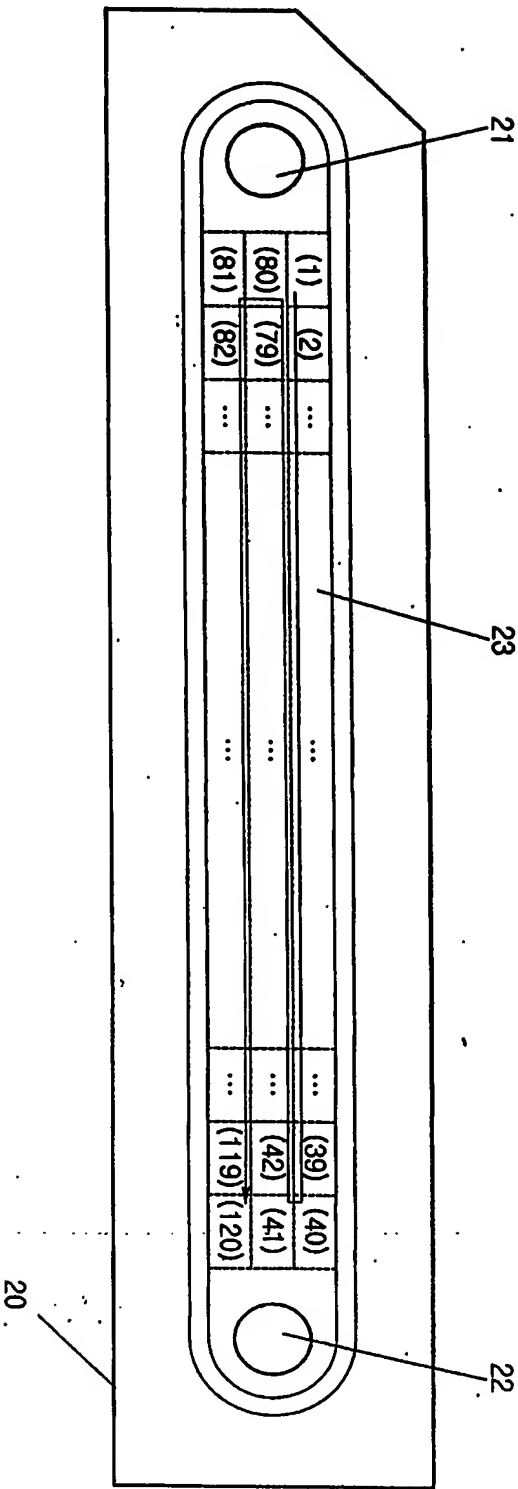
【도 2a】



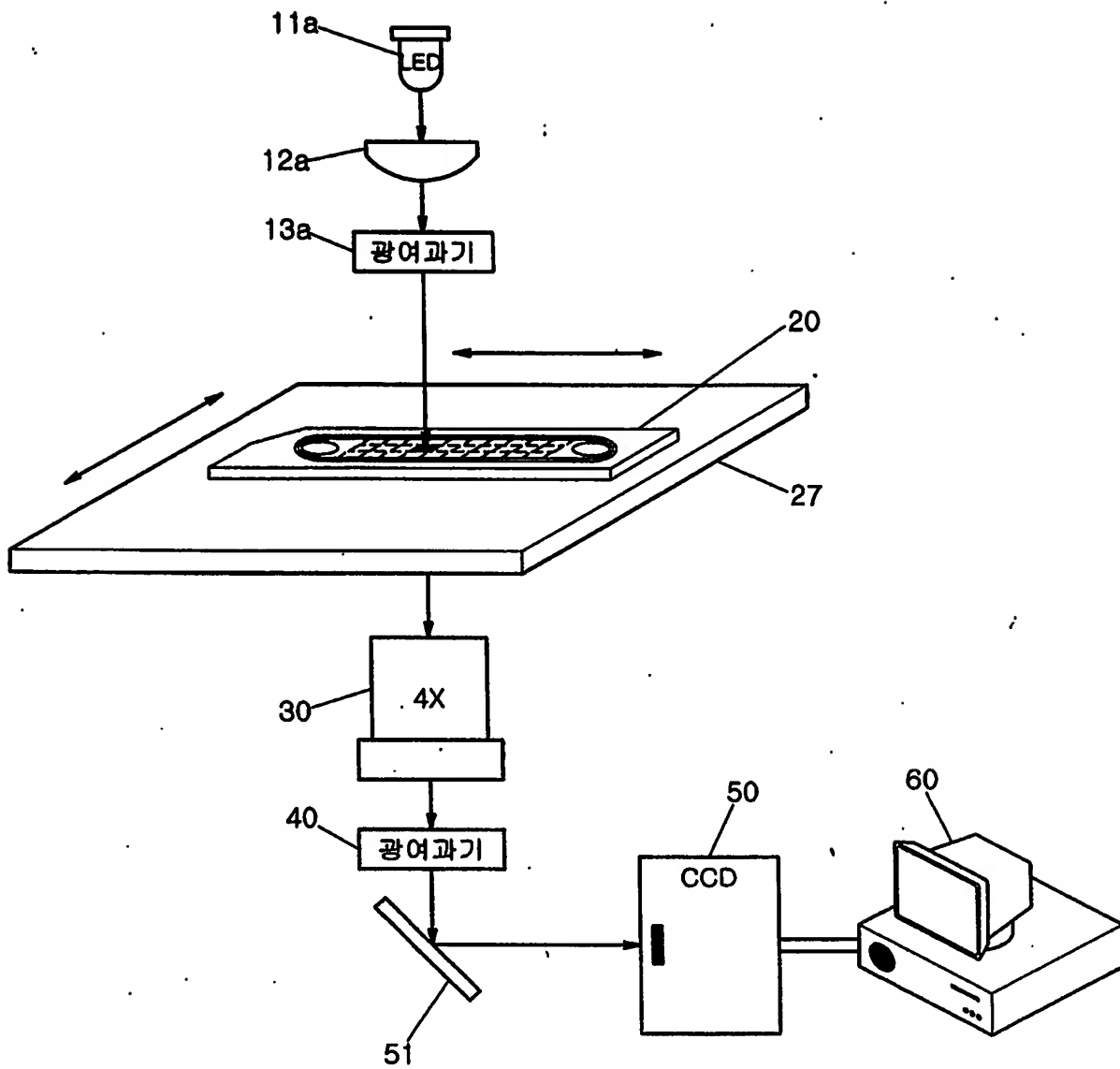
【도 2b】



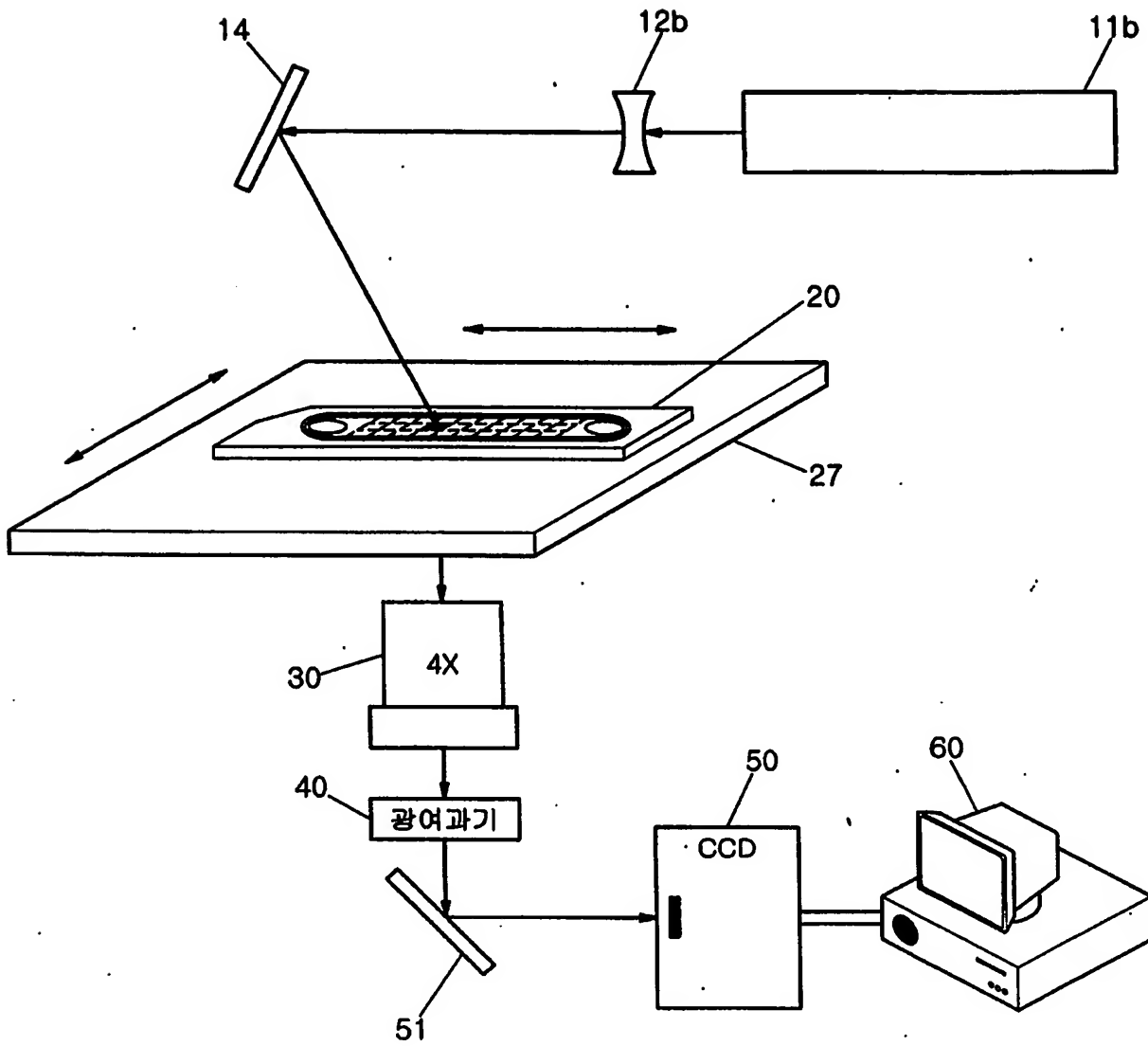
【도 3】



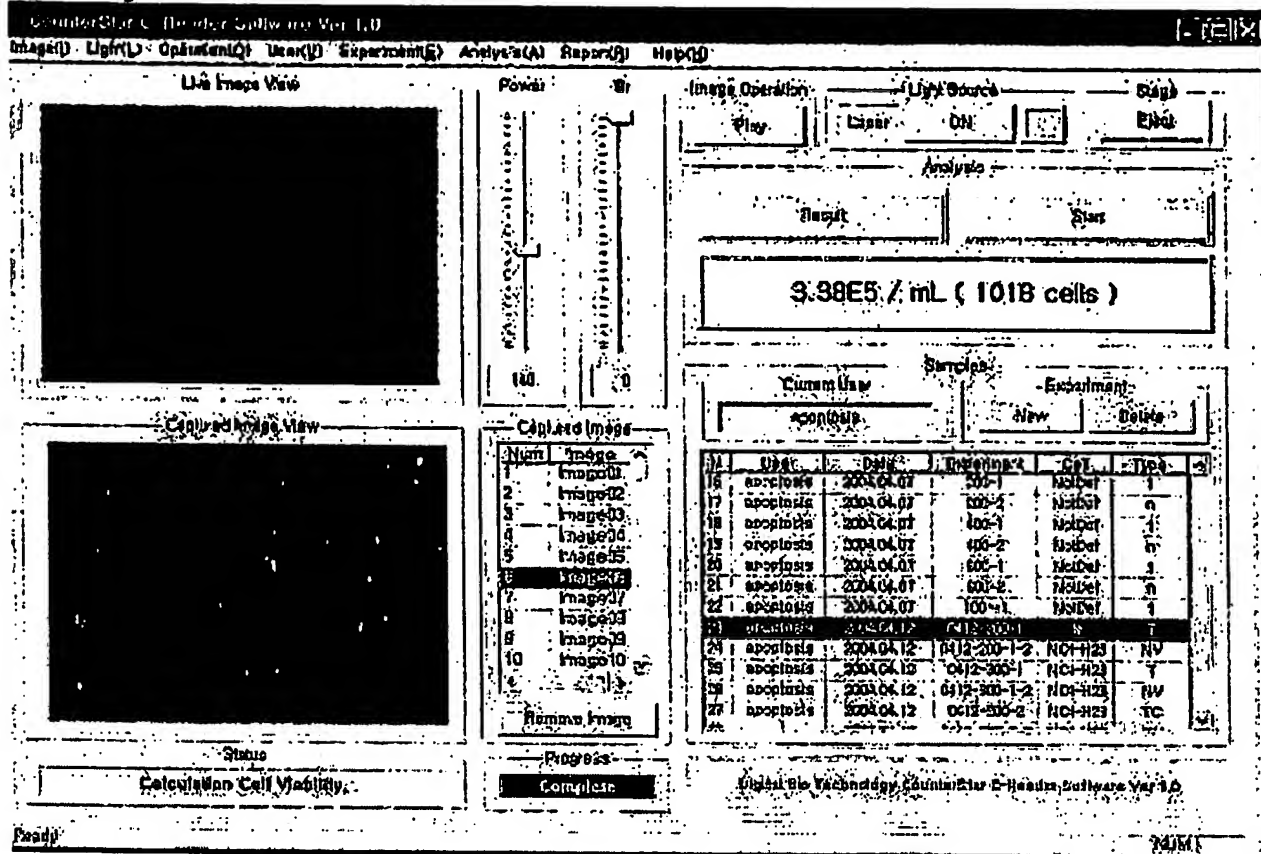
【도 4】



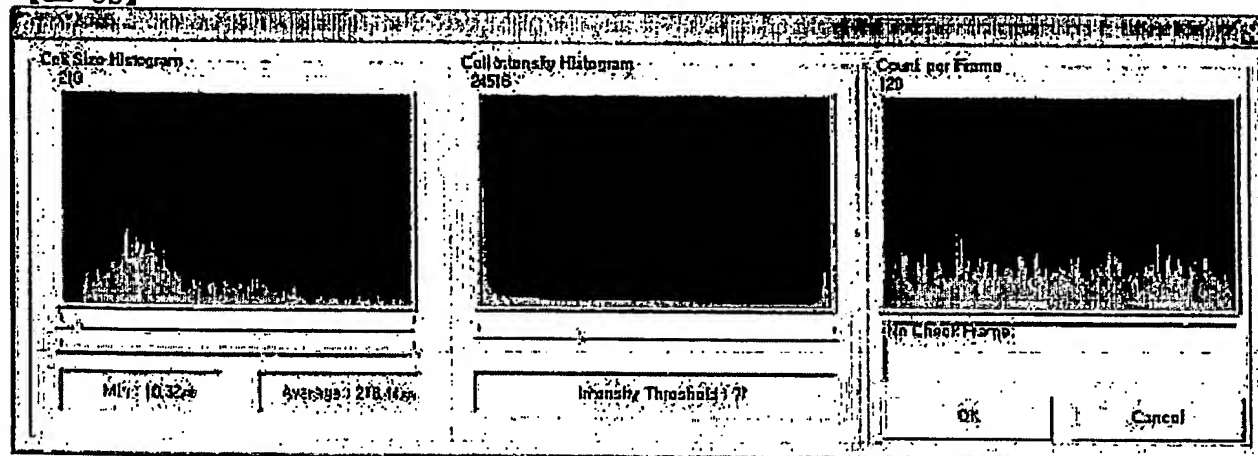
【도 5】



【도 6a】



【도 6b】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.